

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT



別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

1 9 9 9 年 1 月 2 1 日

出 願 番 号

Application Number:

平成 1 1 年 特 許 願 第 0 1 2 6 2 5 号

出 願 人

Applicant (s):

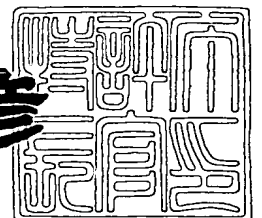
株式会社ニッショー

RECEIVED
AUG - 7 2000
TC 1700 MAIL ROOM

2 0 0 0 年 6 月 2 9 日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Patent Office

近 藤 隆 彦



出 証 番 号 出 証 特 2 0 0 0 - 3 0 5 2 3 4 0

【書類名】 特許願

【整理番号】 11-007

【提出日】 平成11年 1月21日

【あて先】 特許庁長官 伊佐山 建志 殿

【国際特許分類】 A61L 15/64

【発明者】

【住所又は居所】 大阪市北区本庄西 3 丁目 9 番 3 号 株式会社ニッショー
内

【氏名】 松田 和久

【特許出願人】

【識別番号】 000135036

【氏名又は名称】 株式会社ニッショー

【代表者】 佐野 實

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 003919

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 縫合可能な組織再生誘導型癒着防止膜

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 コラーゲン繊維からなる不織布層とコラーゲンからなるスポンジ層を有する積層膜状物の表面に、ゼラチンまたはヒアルロン酸を含む被覆層を有することを特徴とする縫合可能な組織再生誘導型癒着防止膜。

【請求項 2】 ゼラチンまたはヒアルロン酸を含む被覆層が、スポンジ状もしくはフィルム状である請求項 1 記載の癒着防止膜。

【請求項 3】 ゼラチンまたはヒアルロン酸を含む被覆層が、架橋されたゼラチンまたはヒアルロン酸の層である請求項 1 記載の癒着防止膜。

【請求項 4】 コラーゲンが、酵素可溶化コラーゲン、酸可溶化コラーゲン、アルカリ可溶化コラーゲンまたは中性可溶化コラーゲンである請求項 1 記載の癒着防止膜。

【請求項 5】 コラーゲン繊維からなる不織布層とコラーゲンからなるスポンジ層を有する積層膜状物の一部もしくは全部が、架橋されたコラーゲンである請求項 1 記載の癒着防止膜。

【請求項 6】 コラーゲン繊維からなる不織布層が、紡糸されたコラーゲン繊維を凝固させ、圧縮することにより得られた層である請求項 1 記載の癒着防止膜。

【請求項 7】 ゼラチンまたはヒアルロンを含むスポンジ層が、凍結乾燥により形成される請求項 2 記載の癒着防止膜。

【請求項 8】 コラーゲン繊維からなる不織布層とコラーゲンからなるスポンジ層を有する積層膜状物のうち、該不織布層または該スポンジ層のいずれかの層が圧縮して得られた層であるか、または該膜状物が圧縮して得られたものである請求項 1 記載の癒着防止膜。

【請求項 9】 コラーゲン繊維からなる不織布層が、バインダーにより結合されてなるものである請求項 1 記載の癒着防止膜。

【請求項 10】 コラーゲン繊維からなる不織布層の厚さが 50～1,000 μm であり、コラーゲンからなるスポンジ層の厚さが 50～20,000 μm

であり、ゼラチンまたはヒアルロン酸を含む被覆層が 5 0 ~ 2 0 , 0 0 0 μ m である請求項 1 記載の癒着防止膜。

【請求項 1 1】 コラーゲン繊維からなる不織布 1 ~ 6 層およびコラーゲンからなるスポンジ層 1 ~ 4 層が積層して、さらに、ゼラチンまたはヒアルロン酸層 1 ~ 4 層を積層し、全体として 3 ~ 1 0 層からなる請求項 1 記載の癒着防止膜。

【請求項 1 2】 コラーゲンからなる不織布の繊維が、繊維直径 5 ~ 1 , 0 0 0 μ m であり、高密度（繊維密度）が $5 \times 1 0^{-4} \sim 5 \text{ g/cm}^3$ である請求項 1 記載の癒着防止膜。

【請求項 1 3】 コラーゲンからなるスポンジ層の多孔面積が、1 0 ~ 9 0 % である請求項 1 記載の癒着防止膜。

【請求項 1 4】 第 1 層が圧縮コラーゲンスポンジ層、第 2 層が化学架橋された圧縮コラーゲン不織布層および第 3 層が圧縮コラーゲンスポンジ層である積層膜状物の表面に、ゼラチンまたはヒアルロン酸を含む被覆層を有する縫合可能な組織再生誘導型癒着防止膜。

【請求項 1 5】 第 1 層および第 2 層が化学架橋された圧縮コラーゲン不織布である積層膜状物の両表面に、圧縮コラーゲンスポンジ層を有し、さらに該スポンジ層の表面にゼラチンまたはヒアルロン酸を含む被覆層を有する縫合可能な組織再生誘導型癒着防止膜。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、縫合可能な組織再生誘導型癒着防止膜に関するものである。詳しくは生体内での癒着防止膜として、胸膜、心膜、脳硬膜、漿膜などの生体内膜状組織および各種臓器などの欠損部または切断面への補填、補綴などに利用され、特に縫合が可能であり、かつ、生体適合性が良好であり、さらに組織再生の促進を誘導することを特徴とする癒着防止膜に関するものである。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

各種の外科手術においては、患部の切除および損傷部位の修復等を行うことが多く、特に肺、心臓、肝臓、脳、消化器官、胆嚢などの各種臓器を対象とする外科手術の場合には、その切断面や欠損部などに、該臓器の組織を覆っている膜状物を補填または補綴しなければ、その臓器の根本的な機能を損なう場合が多い。これらの処置を不完全に行うと、臓器の機能不全により死亡するか、もしくは生命の危機を逃れても、予後が大変悪くなる傾向が良く見受けられる。また、これらの補綴、補填部位での膜状物の縫合固定が不良であると、該処置を行った臓器自身の機能はかろうじて維持できたとしても、これらの臓器から滲出または漏出した体液、消化液、内容物などにより、感染したり、他臓器への攻撃、浸食を引き起こして生命の危機を招くこともある。

【 0 0 0 3 】

さらに、これら補綴または補填した部位には、膜状物の癒着が高頻度に発生するケースがあり、その結果として、経時的に臓器の機能不全を誘発することもある。このような各種の問題点を解決する目的で、臓器または該臓器の組織を覆う膜状物または癒着防止膜が、様々な材料により開発されている。

【 0 0 0 4 】

本発明者は既に、動物由来コラーゲンのみを利用した医療用膜を改良した膜として、架橋したコラーゲン繊維からなる不織布層の少なくとも一面が、コラーゲン被膜で覆われてなる医療用コラーゲン膜を提案している（特願平10-264891号）。該膜は、コラーゲン繊維からなる不織布層をアルデヒド類で耐水処理し、コラーゲンで前記繊維を相互に結合した外科用創傷被覆材（特開昭50-141190号公報）に比べて、表面層が架橋剤を使用した層でないことから、生体適合性、組織再生促進の誘導などに優れる。また、該膜は直接縫合固定が可能であることから、特に各種臓器への補填、補綴材料としての利用が可能であるなど、外科的手技的に適用範囲が非常に広い特長を併せもつ。また該膜は線維コラーゲンの多孔質層（1）と、コラーゲンおよび／またはゼラチンの膜（2）とで構成される2層よりなる内臓用手術用パッチ（特許2775115号公報）に比べて、特に縫合固定が可能である膜強度を有するため、該特許に記載されている生物接着剤のみによる固定に比べて、より一般的かつ安価な縫合糸で、より強固な適用部への膜固定が

可能であり、外科的適用範囲が広いという特長を併せもつ。

【0 0 0 5】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上記改良された膜は細胞の接着、増殖、伸展を促進する動物由来のコラーゲンを原材料として使用していることから、十分な癒着防止性能を合わせもつことが困難である。したがって、本発明の課題は、縫合強度、生体適合性、組織再生の誘導において優れ、さらに、癒着防止性能を合わせもつ縫合可能な組織再生誘導型癒着防止膜を提供することにある。

【0 0 0 6】

【課題を解決するための手段】

このような課題を解決するために、種々鋭意検討を行った結果、本発明者はコラーゲン繊維からなる不織布層とコラーゲンからなるスポンジ層を有する積層構造を形成する膜状物の表面に、ゼラチンまたはヒアルロン酸を含む被覆層を設けることにより、十分な縫合強度および生体適合性、組織再生促進性能、また十分な癒着防止効果を有する癒着防止膜が得られることを見出し、本発明に到達した。

【0 0 0 7】

すなわち、本発明はコラーゲンからなる不織布層とコラーゲンからなるスポンジ層を有する積層膜状物の表面に、ゼラチンまたはヒアルロン酸を含む被覆層を有することを特徴とする縫合可能な組織再生誘導型癒着防止膜である。

【0 0 0 8】

ところで、癒着を防止する機構として、最も単純かつ効果的である方法は、損傷または欠損等により傷ついた組織と、この組織に物理的に接触が可能である別の組織とを隔壁により接触させないことである。しかし、これを合成繊維等で行う場合、生体適合性の不足から、過度の石灰化、異物反応、炎症反応などの様々な不都合が生じてくる。また、隔壁として用いた材料自身が、損傷または欠損した組織と、それに対応する別組織との癒着を媒介してしまってはならない。これらの条件を満足するものとしては、ヒアルロン酸またはゼラチンなどが挙げられる。両者は共に粘性のある水溶性の液として取り扱うことが可能であり、様々な

加工方法により、ゲルとして利用することが可能である。

【0009】

これらの材料は主に動物等の生体より抽出・精製されるものであるから、生体適合性が良好であり、既に医薬品をはじめ、様々な医療分野で実用化が成されている。また、生体内に埋植した場合、分解・吸収される過程でゼラチンまたはヒアルロン酸分子が徐放され、親水性を保ったまま粘性を継続して発揮するので、損傷または欠損した組織の傷ついた部位と接触していても、物理的に接着、癒着が起こりにくいという特性を合わせ持つ。

【0010】

これらの特長を応用して、ヒアルロン酸を利用した癒着防止膜、医用材料等を製造する技術としては、特開平6-73103号公報、特公平7-30124号公報、登録特許第2670996号公報、特開平8-333402号公報、特開昭61-234864号公報、登録特許第2648308号公報、特開平8-157378号公報、特開平9-296005号公報、特開平7-102002号公報、特表平7-509386号公報などに記載されたものが挙げられる。しかし、これらの技術を含めて、癒着防止効果の他に、同時に組織再生の誘導、縫合が可能である機械的強度を合わせ持つ技術は現在のところ見あたらない。

【0011】

上記ヒアルロン酸と同様に、ゼラチンを癒着防止効果を期待して利用する技術としては、特開平9-103479号公報、特開平8-52204号公報に記載されたものが挙げられる。しかし、これらの技術はいずれもヒアルロン酸を利用した場合と同様に、癒着防止効果、縫合固定が可能な機械的強度、組織再生の誘導、の三点を同時に満足する医用材料を提供するには至っていない。

【0012】

【発明の実施の態様】

本発明において縫合可能とは、膜の一部分において、例えば膜の2点以上において、体内の適用部位、例えば、心膜、脳硬膜、胸膜、腸漿膜などの欠損部位または肺、肝臓等の切断部位に対して、一般的な外科用縫合糸を用いて縫合固定することが可能である状態を意味する。また、該膜が縫合固定部位から容易に逸脱

、脱落、移動、変形することが起こらない状態に一定期間維持可能であることをいう。

組織再生誘導とは、組織が欠損した部位等へ移植された癒着防止膜が、該組織の再生を誘導する性質を意味する。具体的には、このような性質は合成高分子等の人工組成物によく見うけられる体組織の正常な再生過程を阻害する性質を示さず、円滑な自然治癒／再生過程を経過する状態をいう。

生体適合性とは、特に本発明においては、人工物を体内に埋植した場合におこる生体による免疫的、組織的反応の程度を示し、炎症反応等を肉眼で観察して判定した。

癒着とは、本来、分離しているべき臓器・組織が接着・癒合することをいう。この癒着は目視により判定する。

【0013】

本発明の癒着防止膜とは、合成繊維などの合成物質を一切使用せず、生体由来材料であるコラーゲンと、ゼラチンまたはヒアルロン酸を主原料として、これらを不織布状またはスポンジ状に加工して積層させた、主として3～10層から成る積層構造により構成される。該癒着防止膜は、十分に縫合可能な膜強度を主としてコラーゲン不織布層が担当し、生体適合性および組織再生促進性能を主としてコラーゲンスポンジ層が担い、さらに周囲組織との癒着防止効果を、ゼラチンまたはヒアルロン酸により形成される被覆層が発揮すると考えられる。

【0014】

本発明の癒着防止膜は、全て生体由来材料であるコラーゲンおよびゼラチンまたはヒアルロン酸により構成されるため、生体適合性が非常に優秀であるだけでは無く、移植された生体内では除々に分解・吸収され、最終的には全て分解・吸収されることとなる。この分解・吸収の過程において、主にコラーゲンスポンジ層は、コラーゲンの特長である止血作用、細胞の接着・増殖・伸展といった性質を発揮して、移植された欠損部位等の組織再生をも促す。

【0015】

また、コラーゲン不織布層はこれら生体内欠損部位等の組織再生が完了するまでの間、補填、補綴、シールする足場として存在し、縫合固定後の一定期間その

膜強度を維持した後、コラーゲンスポンジ層と同様に全て分解、吸収される。無論、この不織布層もコラーゲンにより構成されているために、強度保持としての役目だけではなく、前述のコラーゲンスポンジ層と同様の特性も少なからず併せ持つ。また、最外層のゼラチンまたはヒアルロン酸層は、その粘性と徐放作用により、損傷または欠損部位の組織と周囲組織との癒着を防止する。

【0016】

なお、この癒着を防止する期間は、損傷または欠損部位の組織が、自然状態で周囲組織との癒着が起こらない程度まで、再生・治癒するまでの期間持続する。本発明により得られる癒着防止膜は、特に縫合が可能であるため、生体中の欠損または損傷部位に直接固定が可能であり、これにより、従来の癒着防止膜に見られた体内における目的部位よりの移動、脱落、逸脱が無く、被癒着部位と欠損、損傷部位等を確実に隔離し、良好な癒着防止効果を発揮することが可能となる。

【0017】

本発明に使用される代表的なコラーゲンとしては、酵素可溶化コラーゲン、酸可溶化コラーゲン、アルカリ可溶化コラーゲンまたは中性可溶化コラーゲンなどの可溶化コラーゲンが挙げられる。これら可溶化されたコラーゲンとは、特に蛋白質分解酵素（例：ペプシン、トリプシンなど）による可溶化处理、もしくはアルカリにより可溶化处理されたものであって、可溶化と同時にコラーゲンの抗原決定基であるテロペプチドの除去処理を行って得られる。通常、アテロコラーゲンと呼ばれる医療用途に適するものが特に好適である。これらの可溶化されたコラーゲンについては、以下の動物種などから、公知の技術（特公昭46-15033号公報、特公昭43-259839号公報、特公昭43-27513号公報など）などに従い、容易に得られる。

【0018】

また、本発明に利用されるコラーゲンの由来については、特に限定はされないが、一般的には牛、豚、鳥類、魚類、兎、羊、ネズミ、ヒトなどが挙げられる。また、コラーゲンはこれらの皮膚、腱、骨、軟骨、臓器などから公知の各種抽出方法を用いることにより得られるものである。また、コラーゲンのタイプについては、I型、III型などの分類可能なタイプの内のいずれかに特に限定されるも

のではないが、取り扱い上の観点から I 型コラーゲンが特に好適である。

また、コラーゲンを可溶化させる溶媒については、取り扱い上、水が好適である。ゼラチンは通常の日本薬局方準拠のゼラチンを使用し、ヒアルロン酸は動物由来、微生物由来のどちらでも良いが、医療用グレードの物が特に好適である。

【0019】

十分に縫合可能な膜強度を有する不織布層を得るためには、上記コラーゲン溶液を凝固浴中に紡糸し、凝固浴の底面で多重多層に交差させて、繊維直径が 5 ～ 1000 μm である繊維の集合体を得る。すなわち、上記可溶化コラーゲン溶液を連続的に湿式紡糸し、この長いままの糸を適当な容器に移し、一定方向のみに配列しないように交差状態に配列して配置する。次に減圧乾燥、自然乾燥、低温乾燥、送風下乾燥などの方法で乾燥して綿状とした不織布（繊維状物）を得る。いずれの乾燥方法においてもコラーゲンの変性を防ぐため、使用するコラーゲンの変性温度以下で乾燥を行うことが重要であり、その温度は使用するコラーゲンの種類にもよるが、おおよそ 35℃ ～ 45℃ の温度域以下が望ましい。特に低温乾燥または減圧乾燥が好ましい。

【0020】

一方、間欠吐出による非連続紡糸、又は通常の連続紡糸を行った後に得られた糸を切断処理することにより、連続、非連続紡糸のいずれの場合においても短いステープル状の繊維状物が得られる。これらを適当な大きさの容器に均一に分散させた状態で、同様に減圧乾燥、自然乾燥などの方法により乾燥させ不織布（繊維状物）を得ることも可能である。

【0021】

紡糸に使用する可溶化コラーゲン溶液の濃度は、使用するコラーゲンの種類により任意であり、紡糸可能であれば、どのような濃度でも構わないが、通常は 0.1 ～ 20 wt % であり、このうち、湿式紡糸では 1 ～ 10 wt % 程度の濃度が特に好適である。また、紡糸時の可溶化コラーゲンの吐出速度、得られた糸の巻き取り速度は、紡糸可能である範囲であれば任意である。

【0022】

紡糸の際に可溶化コラーゲン溶液の吐出に用いる装置は、汎用のギアポンプ、

ディスペンサー、各種押し出し装置等何を用いても良いが、均一な紡糸を行う為には脈動が少なく安定してコラーゲン溶液を定量吐出できる装置が良い。

【 0 0 2 3 】

また、紡糸を行う際の口金の孔径サイズは紡糸さえ可能であれば、特に限定はされないが、あまりに大きな孔径では後工程で繊維状物から膜状物にする場合にはこれが困難となり、また極度に細径であると膜強度の向上が難しいため、通常、 $5 \sim 1000 \mu\text{m}$ 、好ましくは、 $50 \sim 700 \mu\text{m}$ の範囲であることが好ましい。なお、口金の孔数は単数でも複数でも良い。また、口金の形状も特に限定はされず、紡糸可能であれば、例えばスリット状、各種形状などの物を用いても良い。さらに口金の孔長に関しては、これも紡糸可能であれば特に限定はされないが、可溶化コラーゲン分子中のコラーゲン分子を、少しでも多く配向させる目的において、可能な限り長い方が好ましい。

【 0 0 2 4 】

湿式紡糸法の凝固浴としては、一般的にコラーゲンを凝固させることが可能であれば、特に限定はされないが、無機塩類水溶液、無機塩類溶解有機溶媒、アルコール類、ケトン類またはそれらの内から選ばれる組み合わせを採用することができる。これらの凝固浴としては、例えば無機塩類水溶液としては、硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム、硫酸アンモニウム、塩化カルシウム、塩化マグネシウムなどが挙げられるが、特に塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム、硫酸アンモニウムが紡糸には好ましい。また、これらの無機塩類をアルコール、アセトンに溶解／分散させた無機塩類溶解有機溶媒等も利用可能であり、特に塩化ナトリウムのエタノール溶解／分散溶液は好適である。

またアルコール類としては、メタノール、エタノール、イソプロパノール、アミルアルコールなどが挙げられるが、医療用途としてはエタノールが特に好適である。さらにケトン類としてはアセトン、メチルエチルケトンなどがある。

【 0 0 2 5 】

また、単なる凝固浴としてのみでは無く、後述する各種架橋剤との組み合わせにより、コラーゲンの凝固と架橋処理を兼ね備えた加工方法も有効である。たとえば、エタノールとグルタルアルデヒドを混和した溶液を、凝固処理と架橋処理

を兼ね備えた凝固浴として使用した場合、両者の工程を一度に行うことができ、紡糸されたコラーゲン糸はそのまま浸漬することにより架橋処理も可能である。これらの同時処理は、工程の合理化だけではなく、希薄なコラーゲン溶液による紡糸や細径の糸を紡糸する際に非常に有効である。

【 0 0 2 6 】

上記の不織布層の形成方法において、特に好適な具体例を以下に記す。コラーゲン吐出用口金の孔径が $\phi 200 \mu\text{m}$ 程度で、孔長 $15 \sim 20 \text{ mm}$ 程度のものを使用し、脈動なく可溶化コラーゲン溶液をディスペンサー等で吐出させ、 99.5 vol\% エタノール凝固浴中へ湿式紡糸することが望ましい。 99.5 vol\% エタノール凝固浴中に可溶化コラーゲンを押し出す際には、吐出口金を随時移動せしめ、紡糸された糸が任意の方向より交差し得る状態で連続的に押し出し、糸を多重多層状態にした後に凝固液を除去して、再度、エタノールで洗浄し、減圧乾燥することにより、非常に良好な綿状の繊維状物を簡便に得ることができる。この方法は、紡糸と不織布化が同時に行えると言う点において、工程の簡素化、短縮化、経済性の面で特に有効である。

【 0 0 2 7 】

なお、この例は代表的なものであり、繊維状物が得られさえすれば、これに限定されるものではなく、例えば前述のステープル状短繊維を利用しても良いし、凝固浴の種類、凝固浴と架橋剤の混合浴の利用、また乾燥方法等を変更し、さらにそれらの組み合わせを変更しても一切支障はない。

【 0 0 2 8 】

上記方法で得られた不織布層は十分な縫合強度を獲得するために、さらに架橋処理を施すことが望ましい。これは架橋処理により、特に湿潤時における物理的な強度が向上し、縫合に必要な強度が十分に確保できるからである。また、生体内に移植された際に分解・吸収される時間を、未架橋の場合に比較して飛躍的に遅延させるためでもある。

この架橋処理により、生体の欠損部を補填または補綴し、欠損による臓器・組織等の機能不全を防止し、しかも創傷面の修復および組織の再生を完了するまでの期間、体内で必要な膜強度を維持したまま残存することが可能となる。

【0029】

この架橋方法には、大別して物理的架橋方法と化学的架橋方法が存在する。物理的架橋架橋方法の例としては γ 線、紫外線、電子線、プラズマ、熱脱水架橋などが挙げられ、一方、化学的架橋方法の代表例としては、ジアルデヒド、ポリアルデヒドなどのアルデヒド類、エポキシ類、カルボジイミド類、イソシアネート類、タンニン処理、クロム処理などが挙げられる。このうち、アルデヒド類としては、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、酸アルデヒド、グリオキザール、マロンジアルデヒド、スクシンジアルデヒド、フタルアルデヒド、ジアルデヒド澱粉、ポリアクロレイン、ポリメタクロレインなどがあるが、コラーゲンとの架橋反応が可能なアルデヒド類であれば、どのようなものでも構わない。また、エポキシ類としては、グリセロールジグリシジルエーテル、ソルビトールジグリシジルエーテル、エチレングリコールジグリシジルエーテル、ポリエチレングリコールジグリシジルエーテル、ポリグリセロールポリグリシジルエーテルなどがあり、このほかコラーゲンと架橋反応が可能なエポキシ化合物であれば、使用可能である。さらに、カルボジイミド類の一例としては、特に水溶性カルボジイミドが好適であるが、同様の反応機構が可能であれば、何でも良い。また、イソシアネート類の代表例としては、ヘキサメチレンジイソシアネート、トリレンジイソシアネートなどが挙げられるが、特に架橋反応に関与するイソシアネート基を2つ以上保有しているものであれば、コラーゲンを架橋可能であり、特にこれらのみに限定はされない。

【0030】

上記の方法により、紡糸等で得られたコラーゲン不織布（繊維状物）は、より高い縫合強度を得るために、さらにこれを圧縮することもできる。圧縮することにより、不織布層の繊維密度が上がり、より強度の高い好ましい膜状物を得ることが可能になる。

圧縮は汎用のプレス機で行うことが可能であるが、医療用途を目的とすることから、十分に丈夫な滅菌済みの包装材、例えばアルミパック、高強度樹脂包装材等により無菌的に包装された状態で圧縮されることが望ましい。

この際、不織布層を圧縮する圧力に関しては、不織布層本体を破壊しない範囲

において特に制限はされないが、通常、 $10 \text{ kg f / cm}^2 \sim 1000 \text{ kg f / cm}^2$ であることが望ましい。

不織布層は強度向上の目的で嵩密度（繊維密度）を上げるためにも、また最終形態である積層構造をもつ癒着防止膜にした場合における医療行為上の取り扱いの観点からも、可能な限り十分に圧縮され、薄層化されることが望ましい。このように薄層化された不織布層は、これを積層し、多層構造とすることによって、さらに縫合強度を高めた癒着防止膜を得ることが可能となる。圧縮された嵩密度（繊維密度）は、 $0.1 \sim 5 \text{ g / cm}^3$ であることが好ましい。

【0031】

上記方法により得られた不織布層または圧縮された不織布層の物理的強度を、さらに向上する目的で、バインダー処理を施すことが可能である。バインダーとしては可溶性コラーゲン溶液が好ましい。これは不織布層または圧縮された不織布層に、可溶化コラーゲンの溶液を含浸させた後、自然乾燥、送風下乾燥、減圧乾燥、低温下乾燥などの適当な乾燥方法で乾燥を行い、不織布層の繊維同士を結合させ、膜状にする手法である。

この操作により得られた膜状物は、不織布層単体の時よりもはるかに物理的強度が向上し、従って、縫合強度も格段に向上する。なお、要求される物理的強度の程度により、この含浸・乾燥の工程を1回～数10回以上繰り返しても差し支えない。

【0032】

ただし、バインダー処理を行う際には、不織布層または圧縮された不織布層に架橋処理が施されていない場合、可溶化コラーゲンの溶液に含浸した時点で不織布層自身が溶解してしまうことがある。したがって、前述の方法等で、前もって架橋処理を施しておくことが望ましい。なお、含浸処理の他には、収容した適当な容器または型中に不織布層とともに可溶化コラーゲンを流延または充填する方法や直接、不織布層に可溶化コラーゲン溶液を塗布する方法もある。

【0033】

本発明におけるコラーゲンからなるスポンジ層とは、微細な多孔を有するコラーゲン層であり、その孔径はコラーゲンの種類、製法などにより種々異なる。ス

ポンジ層に占める空孔の割合（空孔率）は、通常、10～90%である。

【0034】

本発明の膜状物は、コラーゲンからなる不織布層とコラーゲンからなるスポンジ層からなる積層構造を有する。特にコラーゲン不織布層は厚さが50 μ m～10mmであり、コラーゲンスポンジ層は、厚さが50 μ m～20mmであり、本発明の膜状物はコラーゲン不織布層1～6層およびコラーゲンスポンジ層1～4層である。該膜状物の表面はゼラチンまたはヒアルロン酸層であることが好ましい。ゼラチン又はヒアルロン酸層は1～4層であり、厚さが50 μ m～20mmであるフィルムまたはスポンジ状であることが好ましい。

【0035】

本発明の膜状物中の不織布層は、そのままで十分に縫合可能な膜強度を有するが、バインダー処理を施す事により更に膜強度を向上する事が可能である。バインダー処理方法としては、あらかじめスポンジ状に乾燥しておいたコラーゲン層で不織布層を挟んで膜状物を得るか、もしくはスポンジ層と不織布層を同時に圧縮し。不織布層をスポンジ層に埋入せしめて得た膜状物を、希薄なコラーゲン溶液または水の存在下で圧縮もしくは減圧下に置くことにより、可溶化コラーゲンのスポンジ層を溶解させ、不織布層と十分になじませてから各種乾燥方法により得る。このスポンジ層を利用するバインダー処理方法は、不織布層の繊維同士を結合させるために、実際に使用されるコラーゲン量に対して、水分などの溶媒成分が非常に少量で済むために、後工程で乾燥を行う際に短時間で済む。さらに、乾燥時における拘縮、変形などが非常に少ないという大きなメリットがある。通常の含浸工程であれば、含浸用可溶化コラーゲン溶液中の実質コラーゲン量は、実用的溶液粘度から、数%程度が限度であり、残り90%以上は水分等の溶媒成分となるため、含浸・乾燥の操作に時間がかかるだけでなく、この操作自体を反復する必要があるために、簡便な方法であるが、合理性に欠ける。無論、これらは代表例であり、不織布層または圧縮された不織布層の繊維同士を可溶化コラーゲンを用いて結合させ、膜状物とする方法であれば、どのような方法でもよく、上記代表例には特に限定されない。

【0036】

本発明では、上記方法により得られたコラーゲン不織布層に、さらにコラーゲンのスポンジ層を有し、さらに該積層膜状物の表面上に、ゼラチン層またはヒアルロン酸層を形成することが必要である。該形成法は定法に従い、凍結乾燥などの方法により容易に形成可能である。具体的な製法の一例としては、バインダー処理を施した不織布層を、コラーゲンの溶液を充填した容器中に漬け、コラーゲン溶液層の中間位置に留まるように調整した後に凍結し、凍結乾燥させてコラーゲンスポンジ層を得る。さらにこれを圧縮して膜状物を得る。つぎにこの膜状物をヒアルロン酸の溶液を充填した容器中に浸漬し、コラーゲンスポンジ層の形成と同様に凍結、凍結乾燥、圧縮の操作を行い、ヒアルロン酸スポンジ層を有する癒着防止膜を得る。最後にこの癒着防止膜に熱脱水架橋を施す方法がある。

【 0 0 3 7 】

コラーゲンスポンジ層とゼラチンまたはヒアルロン酸のスポンジ層を形成する工程は、その順序・方法等については特に限定されない。一例として、これら各種スポンジ層を独自に作製して、その後にコラーゲン不織布層に可溶化コラーゲンなどを接着剤として用いて接着する方法がある。

【 0 0 3 8 】

また、コラーゲン不織布層を、可溶化コラーゲンの溶液に浸漬させた後に一度凍結し、再度、同様にゼラチンもしくはヒアルロン酸溶液に浸漬させ、これらを凍結して一体化した後に凍結乾燥することにより、同時にコラーゲン層とゼラチンまたはヒアルロン酸の積層スポンジを得る方法などがある。しかし、これらはスポンジ層と不織布層が生体内移植時に簡単に剥離・分離すること無く一体化されることが目的であり、これが達成されるのであれば、どのような方法でも構わない。

【 0 0 3 9 】

スポンジ層の作製については、可溶化コラーゲン溶液、ゼラチン溶液、ヒアルロン酸溶液などを、容器に流延または所望の厚さとなるまで充填し、汎用のフリーザー等で十分に凍結した後、凍結乾燥機で乾燥することにより均一な各種スポンジ層が得られる。この時、各種スポンジに形成される微細な多孔の孔径は、可溶化コラーゲン溶液、ゼラチン溶液、ヒアルロン酸溶液の濃度とその溶媒、凍結

時の温度と凍結時間などにより変化する。

【0040】

また、各種スポンジの厚さおよび各種スポンジ層に使用される総原料量は、生体内に移植された場合の分解・吸収時間、組織再生の誘導への影響を考慮して、任意にコントロールすることが可能である。これらの状況を考慮して、一般的には可溶化コラーゲン溶液の濃度は0.5～5wt%の範囲であり、好ましくは1～3wt%である。またゼラチン溶液の濃度範囲は0.5～60wt%であり、好ましくは5～40wt%である。さらにヒアルロン酸溶液の濃度範囲は0.1～50wt%であることが望ましい。

【0041】

また、凍結温度は-196℃～-10℃、好ましくは汎用のフリーザーまたはディープフリーザーで設定可能である-80℃～-10℃が好ましい。また、凍結乾燥機は安定して乾燥が可能であれば特に限定はされない。

さらに可溶化コラーゲン溶液、ゼラチン溶液、ヒアルロン酸溶液の容器への充填量は、仕上がりスポンジの厚さがおおむね1mm～20mm程度になるように充填すれば良い。これらの値は、使用する目的に応じて随時変更が可能であり、これらの例示には限定されない。

また、コラーゲンスポンジ層、ゼラチンスポンジ層、ヒアルロン酸スポンジ層における各種原料の総量および各種スポンジ層の厚さについては、対象となる部位の癒着防止効果、損傷・切断部位の修復、組織再生の誘導などにおける支障を来さないように、おおむね1～4週間程度各スポンジ層が体内で残存している程度が望ましい。

【0042】

なお、癒着防止効果を発揮するヒアルロン酸またはゼラチンの層は、スポンジの形状のみには限定されず、例えば通常の流延方式などにより得られるフィルム状などに加工されていても良い。また、癒着防止効果を付与する為にゼラチンまたはヒアルロン酸層を形成する場合には、目的に応じて膜の片面、または両面、あるいは一部分または全面被覆など様々な形態が選択可能であり、ゼラチンまたはヒアルロン酸層の形成方法・またその部位については特に限定されるものでは

無く、任意の組み合わせが可能である。

【 0 0 4 3 】

上記の各種架橋方法により、架橋処理を施される対象としては、本発明の癒着防止膜が、全てコラーゲンとゼラチンもしくはヒアルロン酸により構成されているから、膜を構成するスポンジ層、不織布層、ゼラチン層またはヒアルロン酸層、およびこれらが一体化され積層化された癒着防止膜の一部、または全部が対象となる。

また、架橋の順序、架橋方法の組み合わせは任意であり、特に限定されない。しかし、最も好ましくは、コラーゲン不織布層においてグルタルアルデヒドなどのアルデヒド類を用いた架橋を施し、しかる後にコラーゲンスポンジ層とゼラチン層またはヒアルロン酸層を形成し、これと一体化させ、最後に熱脱水架橋を施すことである。これらの方法においては、コラーゲンの紡糸・不織布化の工程において、エタノール等の凝固剤と、グルタルアルデヒドに代表される架橋剤類を混合し、紡糸と架橋の工程を一度に行う方法なども含まれる。

【 0 0 4 4 】

本発明の方法により、最終的に得られる癒着防止膜は、縫合強度、生体適合性、組織再生の誘導の効果の点において最適の癒着防止膜である。

なお、コラーゲン不織布層において、バインダー処理を行う場合には、これにより形成されるコラーゲン層をも熱脱水架橋することが望ましい。しかし、これはあくまで一例であって、例えば全ての層を熱脱水架橋により処理しても何ら問題は無く、また、滅菌と架橋を兼ねて、例えばγ線を照射しても良い。すなわち本癒着防止膜の製造工程における架橋処理方法の組み合わせ、および順序等については、前述の架橋の目的を達成可能な程度に良好に架橋が行われるのであれば特に制限は無い。

【 0 0 4 5 】

上記方法より得られた不織布層と各種スポンジ層を有する癒着防止膜を、さらに圧縮することが可能である。各種スポンジ層単独または不織布層単独を圧縮した後に、圧縮されていない不織布層または各種スポンジ層と一体化しても良い。特に好ましくは、製膜の最終工程において不織布層と各種スポンジ層が一体化さ

れているものを同時に圧縮することである。これは圧縮することにより膜厚が減少し、薄膜化されたことによって、手術現場等において実際に癒着防止膜を使用する際に、縫合における縫合針の貫通性、任意の形状への切断等の取り扱いが特に向上し、移植手術等がより円滑に行える。圧縮の方法は不織布層を圧縮する際と全く同様に、汎用のプレス機で行うことが可能であるが、医療用途を目的とすることから、十分に丈夫な滅菌済みの包装材、例えばアルミパック、高強度樹脂包装材等により無菌的に包装された状態で圧縮される事が望ましい。また、癒着防止膜を圧縮する圧力に関しては、膜本体を破壊しない範囲において特に制限はされないが、通常 $10 \sim 1000 \text{ kgf/cm}^2$ であることが望ましい。

【0046】

【実施例】

以下、本発明を実施例を用いて詳細に説明する。

実施例 1

まず、エルレンマイヤーフラスコ中でニワトリ由来アテロコラーゲンをマグネチックスターラーで緩やかに攪拌しながら、注射用蒸留水を加えて、コラーゲン濃度が 3 wt % または 5 wt % である 2 種のコラーゲン溶液を、クリーンベンチ内で無菌的に調製した。

次に、5 wt % コラーゲン溶液 40 ml をディスペンサー（サンエイテック社製：EFD900 型）を用いて、27 ゲージサイズ（孔径 $200 \mu\text{m}$ ）のニードル先端より、4.0 bar の定圧条件下で、99.5 vol % エタノール液（和光純薬社製、特級）である凝固浴中に連続押し紡糸を行った。

なお、連続押し紡糸中において、ニードル先端をエタノール凝固浴上でランダムに移動させながら、沈降・凝固したコラーゲン糸が凝固浴の底面で多重多層に交差するように紡糸させて、不織布（繊維状コラーゲンの集合体）を得た。次に、この不織布（集合体）を 1 時間放置して十分に凝固させた後、同じエタノール溶液中で 2 回凝固液を交換して洗浄した。繊維の直径は $60 \mu\text{m}$ 、不織布の嵩密度は 0.9 g/cm^3 である。

【0047】

上記不織布（繊維状コラーゲンの集合体）を、そのまま、バキュームドライオ

ープン（E Y E L A 社製：VOS-300VD型）中で油回転真空ポンプ（U L V A C 社製：GCD135-X A 型）にて室温～減圧下（1 Torr未満）で4時間乾燥させ、不織布（繊維状コラーゲン不織布）を得た。次に、この不織布を滅菌済みアルミ包材に入れ、ハイプレッシャージャッキ（井内盛栄堂社製：15 t プレス機）にて 100 kgf/cm^2 の圧力で圧縮し、約 $8 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ の圧縮不織布（繊維の直径は $60 \mu\text{m}$ 、不織布の嵩密度は 0.9 g/cm^3 ）を得た。

【0048】

次に、この圧縮不織布を5%グルタルアルデヒド溶液（和光純薬製、1級グルタルアルデヒド25%溶液を注射用蒸留水で希釈）に4時間浸漬させ、架橋処理を行った。反応終了後に注射用蒸留水で十分に洗浄した後、注射用蒸留水浴中に1時間浸漬させ、浸漬中に水を3回交換して、余剰のグルタルアルデヒドを除去した。架橋処理が完了した不織布を乾燥し、滅菌済みアルミ包材に入れ、ハイプレッシャージャッキ（井内盛栄堂社製：15 t プレス機）にて 100 kgf/cm^2 の圧力で圧縮し、約 $8 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ の圧縮不織布（繊維の直径は $60 \mu\text{m}$ 、不織布の嵩密度は 0.9 g/cm^3 ）を得た。

【0049】

別途、凍結乾燥したコラーゲンスポンジを下記方法により作製した。

まず、3 wt %可溶化コラーゲン溶液をスチロール角型容器に入れ、厚さ約17 mmまで充填した後、フリーザー（S A N Y O 社製：MEDICALFREEZER）にて、 -20°C 下で12時間程凍結処理した。

次に、上記凍結した可溶化コラーゲンを上記容器に入れたまま、凍結乾燥機（E Y E L A 社製：FDU-830型）中に移し、油回転真空ポンプ（U L V A C 社製：GCD200-X A 型）にて減圧下（0.05 Torr未満）で約24時間凍結乾燥して、コラーゲンスポンジを得た。なお、凍結乾燥終了時の膜厚は約15 mm、空孔率は約70%であった。

【0050】

架橋処理された上記圧縮不織布1枚を、別途作製した上記コラーゲンスポンジ2枚と共に、再び 100 kgf/cm^2 の圧力で圧縮し、不織布層がスポンジ層に埋没した3層構造を有する約 $8 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ の大きさのコラーゲン膜状物を得

た。(スポンジ層／不織布層／スポンジ層) 表面層はコラーゲンスポンジ層である。

【0051】

次に、上記膜状物を 3 w t % 可溶化コラーゲン水溶液約 1 5 m l 中に浸漬した状態で、バキュームドライオーブン (E Y E L A 社製: VOS-300VD 型) 中にて減圧し、膜状物中の空気を脱気して可溶化コラーゲン溶液を上記膜状物のスポンジ層に強制的に含浸させた。

得られたスポンジ層が溶解した膜状物を低温下 (4℃) で 2 4 時間乾燥した。

乾燥膜状物をスチロール角形容器に移し、該乾燥膜状物の上から、3 w t % 可溶化コラーゲン溶液を厚さ 1 5 m m に注ぎ込み、膜状物がほぼ中間層に来るように滅菌ピンセット等で位置調整を行った後、フリーザー (S A N Y O 社製: MEDICALFREEZER) 中にて - 2 0℃ 下で 1 2 時間程凍結処理した。さらに凍結乾燥を行い、コラーゲンスポンジ層／不織布層／コラーゲンスポンジ層なる 3 層積層構造の凍結乾燥状態の膜を得た。

【0052】

前記凍結乾燥状態のコラーゲン膜状物を、 200 kgf/cm^2 で圧縮し、次に 3 0 w t % ゼラチン溶液に浸漬し、同様に、- 2 0℃ 下で 1 2 時間程凍結処理を行った。ゼラチン層／コラーゲンスポンジ層／コラーゲン不織布層／コラーゲンスポンジ層／ゼラチン層の 5 層積層構造の凍結乾燥状態膜を得た。

【0053】

次に、得られた圧縮不織布層と各種スポンジ層が一体化したコラーゲン膜状物を、再度同様に、 400 kgf/cm^2 の圧力で圧縮し、厚さ約 1. 6 m m、大きさ約 8 c m × 5 c m の 5 層構造のコラーゲン膜状物 (ゼラチン層／コラーゲンスポンジ層／コラーゲン不織布層／コラーゲンスポンジ層／ゼラチン層) を得た。

【0054】

次に、この得られた膜を、バキュームドライオーブンと油回転真空ポンプ (U L V A C 社製: GCD135-XA 型) にて 1 3 5℃、減圧下 (1 Torr 未満) で 1 2 時間、熱脱水架橋処理を行った。このようにして、コラーゲン不織布層の繊維のみ

がグルタルアルデヒド架橋処理と熱脱水架橋された癒着防止膜を得た。得られた癒着防止膜の縫合強度、生体適合性、組織再生の誘導性、癒着防止性を下記実施例 3 ～ 5 に示す。

【 0 0 5 5 】

実施例 2

ディスペンサー（サンエイテック社製：EFD900型）を用いて、20ゲージサイズ（孔径600 μ m）のニードル先端より2.0barの定圧条件下で紡糸すること以外は、実施例1と同様にして不織布を得た。次いで、得られた不織布に実施例1と同様にして、グルタルアルデヒド処理を4時間行い、再び圧縮した。

得られた圧縮不織布2枚を重ねて積層構造とした。次に、2枚の圧縮不織布層をスチロール角形容器に入れ、さらに3wt%コラーゲン溶液を厚さ15mm充填した後、フリーザー（サンヨー社製：MEDICALFREEZER）にて、-20℃下で12時間凍結し、次いで凍結乾燥を約24時間行った。

得られた不織布を含有するスポンジ状コラーゲン膜を、再度、3wt%のコラーゲン溶液約20mlに含浸させ、コラーゲンスポンジ層を完全にゲル状にした後、クリーンベンチ内で約12時間送風下にて乾燥させた。不織布層にコラーゲン溶液によるバインダー処理を行ったプレート状コラーゲン膜が得られた。

次にこのプレート状コラーゲン膜をグルタルアルデヒドの5%溶液（和光純薬製、1級グルタルアルデヒド25%溶液を注射用蒸留水で希釈）に4時間浸漬させ、架橋処理を行った。反応終了後に注射用蒸留水で、プレート状コラーゲン膜を十分に洗浄した後、注射用蒸留水浴中に2時間浸漬させ、浸漬中に水を5回交換して、余剰のグルタルアルデヒドを除去した。

洗浄が完了した膜状物を、4℃下で24時間乾燥させた後、膜状物をスチロール角型容器に移し、その上から3wt%可溶化コラーゲン溶液を厚さ15mmに注ぎ込み、膜状物がほぼ中間層に来るように滅菌ピンセット等で位置調整を行った後、フリーザーにて、-20℃下で12時間程凍結処理した。凍結したコラーゲン膜をスチロール角型容器のまま、凍結乾燥を約24時間行った。

【 0 0 5 6 】

得られた圧縮不織布層とスポンジ層が一体化したコラーゲン膜状物を、再度、 400 kgf/cm^2 の圧力で圧縮し、厚さ約 1.7 mm 、大きさ約 $8\text{ cm} \times 5\text{ cm}$ の4層構造のコラーゲン膜状物を得た。

この膜状物をスチロール角型容器に移し、 3 wt\% ヒアルロン酸溶液を約 10 mm の厚さに充填して、凍結・凍結乾燥して、ヒアルロン酸によるスポンジ層を有する膜状物を得た。

このようにして、コラーゲンスポンジ層の外側全面にヒアルロン酸によるスポンジ層を形成した。このようにして得られた積層膜を、再度 400 kgf/cm^2 の圧力で圧縮し、厚さ約 1.9 mm 、大きさ約 $8\text{ cm} \times 5\text{ cm}$ の6層構造の癒着防止膜を得た。

次に、この得られた膜を、バキュームドライオーブンと油回転真空ポンプ（ULVAC社製：GCD135-XA型）にて、 135°C 、減圧下（ 1 Torr 未満）で12時間熱脱水架橋処理を行った。このようにして、不織布層とバインダー層がグルタルアルデヒドにより架橋処理され、コラーゲンスポンジ層とヒアルロン酸スポンジ層が熱脱水架橋された癒着防止膜を得た。得られた癒着防止膜の縫合強度を下記実施例3に示す。

【0057】

実施例 3

縫合強度の測定

実施例1および実施例2において作製した癒着防止膜の縫合強度を測定した。コントロールサンプルとしては、ゴアテックス心膜（ゴアテックス社製：ゴアテックス EPTFEパッチII（心膜用シート））、ブタ摘出心膜、ブタ摘出脳硬膜を使用した。なお、ブタ摘出心膜および摘出脳硬膜は、約 20 kg のブタを麻酔下で摘出手術により、各膜を取り出した後、生理食塩水に浸漬させ、新鮮な状態で直ちに測定した。

測定方法は以下の通りに行った。まず、各サンプル膜およびコントロール膜を全て $1\text{ cm} \times 2.5\text{ cm}$ のプレート状切片として切り出し、長辺方向の片端より 5 mm の距離で、膜の中央部に、縫合糸（4-0プロリン糸、ETHICON, INC製）を通して輪状に結節した。次に、縫合糸を結節した切片を 37°C の生

理食塩水中に 3 0 分間浸漬させた後、速やかに取り出して、引張り強度測定計（島津社製オートグラフ S - 5 0 0 D）により、引張り強度を測定した。測定条件は、縫合系を通した側と反対側の端を、各末端より約 1 0 m m の距離までチャックして固定し、一端にある輪状の縫合系を測定フックに掛けて、1 0 m m / 分の一定速度で引っ張り測定した。この時、切片が 4 - 0 プロリーン糸により切断、または該プロリーン糸が切片より離れる時点までの強度変化を測定した。記録された強度の中で、その最高値を本発明の癒着防止膜の縫合強度（N：ニュートン）とした。

その結果を表 1 に示す。

【0 0 5 8】

【表1】

	ゴアテックス心膜	ブタ心膜	ブタ脳硬膜	実施例 1	実施例 2
測定値 (N)	8. 5	4. 0	8. 3	8. 5	8. 8

【0 0 5 9】

表 1 から明らかなように、本発明の癒着防止膜は、縫合強度において、ゴアテックス心膜（ゴアテックス社製：ゴアテックス E P T F E パッチ II（心膜用シート））と同等であり、ブタ摘出心膜より顕著に優れ、またブタ摘出脳硬膜よりも優れる。

【0 0 6 0】

実施例 4

埋植試験

実施例 1 で得られた癒着防止膜を、ウサギ（n = 8）の背部筋肉内に埋植して、その組織反応を肉眼と光学顕微鏡により観察し、生体適合性を評価した。

埋植サンプルは、実施例 1 により得られた癒着防止膜を 1. 5 m m × 1 0 m m の大きさに切断して使用した。また、コントロールとしては、高密度ポリエチレンプレートをサンプルと同じ大きさに切断して使用した。なお、コントロールは E O G 滅菌を行って使用した。サンプル膜は 2 5 k G y の γ 線を照射して滅菌した後に埋植試験に使用した。

埋植は、まず、ウサギ（体重約 2. 5 k g ～ 3. 0 k g）に通常の吸入麻酔を行い、次に無菌的にラット背部脊髄を挟んで左にコントロール、右にサンプルを埋植した。埋植方法は、滅菌した 1 5 ゲージの注射針を用いて皮膚表面に対して斜めに約 3 0 度の角度より刺入して、注射針内に充填しておいたサンプル膜およびコントロールを押し出して、ウサギ筋肉内に埋植した。この後、埋植 1 週間後に 4 羽、さらに 4 週間後に 4 羽を観察対象として使用した。

各観察時間において、ウサギ 4 羽のうちの 2 羽については、麻酔下でサンプル埋植部位を切開し、埋植部分とその周囲組織の観察を炎症反応等を中心に目視による観察を行った。また、残り 2 羽については、過剰の麻酔により犠牲死させ、埋植物を含む周囲組織を摘出した後、通常のホルマリン固定を行い、切片を作製して顕微鏡による観察を行った。

【 0 0 6 1 】

これらの観察結果より、いずれの観察時間において、また全てのウサギにおいて、サンプル膜はコントロールに対して顕著な炎症反応等を示さず、本発明により得られる癒着防止膜の生体適合性が良好であることが分かった。なお、埋植後 4 週間経過した場合においては、サンプル膜が分解・吸収されていることが見受けられた。

【 0 0 6 2 】

実施例 5

癒着防止効果の検討

ラット 1 0 匹（体重 2 5 0 g ～ 3 0 0 g）を 5 匹ずつ 2 群に分け、一方の群をコントロールとし、他方の群をサンプル群とした。コントロール群、サンプル群のいずれの場合も、ラットに筋肉注射により麻酔をかけた後、吸入麻酔により麻酔状態を持続させた。コントロール群では、麻酔下で腹部を切開し、盲腸を露出させた後に、約 5 m m 四方程度の漿膜を剥離した。また、剥離した盲腸漿膜とこれに対応する腹壁側を同様に剥離して、盲腸損傷面と腹壁損傷面とが接合面となる癒着モデルを作製した。コントロール群では、この後特に何も処置をせずに閉腹した。

一方、サンプル群では、コントロール群と同様に癒着モデルを作製した後に、

盲腸損傷面に対して、実施例 1 で作製した癒着防止膜を被覆して固定した。固定した癒着防止膜の大きさは、約 1 0 m m × 1 0 m m 程度の大きさであり、四隅を縫合糸（5-0 バイクリル糸）にて腸管に軽く掛けて縫合固定した。サンプル群およびコントロール群ともに 4 週間後にラットを再手術し、開腹して癒着の状態をそれぞれ目視で観察した。

目視による癒着の程度は下記表 2 の基準を基に判別し、点数化を行って、サンプル群、コントロール群を比較評価した。癒着も認めたと判断する場合は等級 3 以上を採用した。

【 0 0 6 3 】

なお、これらの基準により、サンプル群とコントロール群を比較検討した結果、サンプル群では癒着を認めた例が無かったのに対して、コントロール群では全例等級 3 以上の癒着を認めた。また、サンプル群ではほぼ全例において、癒着防止膜は固定した部位に残存しており、他所へ移動すること無く、損傷面同士を隔離する役目を果たしていた。さらに、残存した癒着防止膜を慎重に剥離し、盲腸の損傷面を目視観察すると、損傷面が再生し始めている様子が伺えた。なお、癒着防止効果に関する詳細な評価結果は下記の表 3 の通りとなり、本発明の癒着防止膜の癒着防止効果と組織再生効果において有効であることが示された。

【 0 0 6 4 】

【表 2】

癒着の程度	状態／条件	点数	等級分類
	癒着なし	0	1
	膜状癒着（容易に用手的等で剥離可能）	1	2
	繊維性癒着（容易に切開等で剥離可能）	2	3
	索状癒着（切開で剥離を必要とする）	3	4
	膜状癒着（組織に損傷を与えずに剥離は困難）	4	5

【 0 0 6 5 】

【表 3】

	コントロール群	サンプル群
平均点	3	0. 4
癒着確認件数	5 例	0 例

【0 0 6 6】

表 3 から明らかなように、本発明の癒着防止膜はその表面にゼラチンまたはヒアルロン酸の被膜層を有することにより、癒着防止効果および組織再生効果において優れる。

【0 0 6 7】

【発明の効果】

本発明の癒着防止膜は、縫合強度、生体適合性、組織再生の誘導において優れ、さらに、癒着防止性能を合わせもつ。

したがって、手術後などにおける生体内の損傷部位もしくは出血部位、またはそれらと正常部位との癒着を防止することができる人工生体膜として有用である。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】縫合強度、生体適合性、組織再生の誘導において優れ、さらに、癒着防止性能を合わせもつ縫合可能な組織再生誘導型癒着防止膜を提供する。

【解決手段】コラーゲン繊維からなる不織布層とコラーゲンからなるスポンジ層を有する積層膜状物の表面に、ゼラチンまたはヒアルロン酸を含む被覆層を有することを特徴とする縫合可能な組織再生誘導型癒着防止膜。

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000135036]

1. 変更年月日 1990年 8月22日
[変更理由] 新規登録
住 所 大阪府大阪市北区本庄西3丁目9番3号
氏 名 株式会社ニッショー